Aus der Frauenklinik der Universität Erlangen
Direktor: Prof. Dr. med. R. Dyroff

Luteotropin und sein Einfluß auf den As (Ascorbinsäure)-Gehalt des Ovars

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen

Vorgelegt von
Hans Reiner Ziegler
Arzt aus Erlangen

1961 № 24

Referent: Professor Dr. med. R. Dyroff
Dekan: Professor Dr. med. F. Heim

Tag der mündlichen Prüfung: 21. Juli 1959

Sonderabdruck aus dem
ZENTRALBLATT FÜR GYNÄKOLOGIE
82. Jahrgang. 1960 Heft 52
JOHANN AMBROSIUS BARTH, VERLAG, LEIPZIG
Printed in Germany

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Aus der Universitäts-Frauenklinik Erlangen
(Direktor: Prof. Dr. R. D y r o f f)

Zur Frage der gonadotropinabhängigen Veränderlichkeit des Ascorbinsäuregehaltes im Rattenovar[1]

Von **H. R. Ziegler** und **K. H. Reiher**

Es ist bekannt, daß einer adrenokortikotropen Stimulation ein Absinken des Ascorbinsäuregehaltes (AS.) der Nebenniere parallel geht. Die eigentliche Rolle, welche die AS. dabei in den Stoffwechselfunktionen der NNR spielt, ist noch nicht sicher bekannt. Nach bisherigen Beobachtungen besteht aber Grund zu der Annahme, daß sie für die Kortikoidproduktion von Bedeutung und in bestimmte Vorgänge der Steroidsynthese eingeschaltet ist. Sollte letzteres der Fall sein, müßte man andererseits infolge einer gonadotropen Stimulation ein Absinken der AS.-Werte im Ovar erwarten, also ein analoges Verhalten, wie wir es nach adrenokortikotroper Stimulation in der NNR regelmäßig feststellen können. C l a e s s o n , der nach der Applikation gonadotrop wirksamer Substanzen einen Abfall der ovariellen AS.-Werte beobachtete, scheint damit den experimentellen Beweis zu führen. C o s t e untersuchte bei unbehandelten Ratten den AS.-Gehalt des Ovar zu verschiedenen Zyklusstadien und fand einen steilen Abfall der Werte im Proöstrus und einen langsamen Anstieg der AS.-Werte im Östrusstadium. Im Diöstrusstadium waren nur relativ geringe Schwankungen festzustellen. Da C o s t e jedoch nur die relativen AS.Werte angibt, ohne die jeweiligen Ovarialgewichte zu erwähnen, muß bei kritischer Beur-

[1] Auszugsweise vorgetragen auf d. gemeins. Tagung d. Österr. Schweiz. u. Bayr. Ges. f. Gynäkologie in Lindau 3. 10. 1959

1542/61

teilung zumindest an die Möglichkeit gedacht werden, daß die Schwankungen der AS.-Werte auf evtl. vorhandene Differenzen der Ovargewichte zurückgehen.

Nach Everett ist der geringste AS.-Gehalt des Ovar zum Zeitpunkt der Ovulation zu finden. Bei der Berücksichtigung verschiedener physiologischer Entwicklungsstadien fanden Coste und Mitarb. eine maximale Konzentration in einer Woche alten Ratten. Mit zunehmendem Entwicklungsalter sinken die ovariellen AS.-Werte langsam ab und blieben im Stadium der Geschlechtsreife relativ konstant. Dieses Verhalten wird mit dem langsam zunehmenden gonadotropen Einfluß der Hypophyse in Zusammenhang gebracht.

Über die Lokalisation der AS. im Gewebe ist wenig bekannt. Doch glaubt van Ravesteyn, daß das Corpus luteum und das interstitielle Gewebe die überwiegenden AS.-Mengen enthält. Giroud und Mitarb. bestätigen diese Beobachtung an männlichen Tieren, wobei die Lokalisation hier jedoch ausschließlich auf das interstitielle Gewebe beschränkt wird. Die von den Autoren verwendeten histochemischen Darstellungsverfahren sind nicht spezifisch, so daß beiden Ergebnissen nur relativ geringe Beweiskraft zukommt.

Anhaltspunkte dafür, daß eine zyklische Abhängigkeit des ovariellen AS.-Gehaltes vermutet werden kann, gehen aus den Arbeiten von Hagel und Hauk, Molnar und Szepasi, Nakajima, Phillips, Lady, Boyer und Werner, Ogawa, William, Gaebler und Beher und Hökfeld hervor. Beim Versuch, diese Ergebnisse nach funktionellen Gesichtspunkten zu ordnen, ergibt sich ein Anstieg der AS.-Werte vom Östrus- zum Diöstrusstadium. Übertragen auf den jeweiligen Einfluß der gonadotropen Wirkstoffe würde das bedeuten, daß unter FSH die AS.-Werte absinken, unter ICSH wieder anzusteigen beginnen und schließlich unter LTH Gipfelwerte erreichen. Ob man dieses Verhalten ohne weiteres auf den Einfluß des luteotrophen Hormon der Hypophyse (LTH) zurückführen darf, wie Coste, Delbarre und Lacronique vermuten, muß u. E. noch als eine hypothetische Betrachtung angesehen werden.

Die bisherigen Ergebnisse experimenteller Prüfungen dieser Frage sind nicht einheitlich. So fand Karg nach der Applikation von Choriongonadotropin (HCG) — dem biologisch ein überwiegend ICSH-ähnlicher Effekt zukommt — ein Absinken der absoluten und relativen AS.-Werte im Ovar. Unbestritten, in diesem Zusammenhang aber auffällig, ist jedoch, daß das Corpus luteum menstruationis mehr AS. enthält als das Corpus luteum graviditatis (Ley). Diese quantitativen Unterschiede lassen sich in Analogie zu den Verhältnissen an der NNR wohl kaum allein durch die aktiveren Stoffwechselbedingungen oder die erhöhte Steroidsynthese erklären, zumal die Verhältnisse dann umgekehrt liegen müßten. Mit der obenerwähnten gonadotropinabhängigen Steigerung des AS.-Gehaltes durch ICSH oder durch LTH (Coste, Delbarre und Lacronique) lassen sie sich ebenfalls nicht in Einklang bringen.

Wegen der Uneinheitlichkeit der Ergebnisse erschien es uns reizvoll, die Frage zu untersuchen, ob bestimmte gonadotrope Wirkstoffe einen Einfluß auf den ovariellen AS.-Gehalt ausüben. Dabei wurde unter verschiedenen methodischen Voraussetzungen im einzelnen geprüft, wie sich die Applikation von HCG oder von LTH allein, und die Verab-

reichung beider Stoffe gemeinsam auf das quantitative Verhalten der AS. im Rattenovar auswirkt. Die Untersuchung der HCG-Wirkung auf den ovariellen AS.-Gehalt als Teilgebiet der Arbeit stellt eine methodische Abweichung der von Karg durchgeführten Untersuchung dar.

Methodik

Unsere Ergebnisse wurden an homologem Tiermaterial eines eigenen, reingezüchteten Wistarstammes gewonnen. Die Tiere standen unter einheitlichen Milieubedingungen. Es wurden nur Tiere verwendet, bei welchen vorhergehende Abstrichkontrollen regelmäßig Östren ergaben. Mit Beginn des Östrus wurden 3 Tage lang täglich je 50 IE HCG injiziert, bei den ersten Anzeichen eines beginnenden Diöstrusstadium dann die Hypophysektomie durchgeführt. Vom Tage der operativen Entfernung der Hypophyse an wurden die entsprechenden Testsubstanzen injiziert, die Tiere 4 Tage später getötet, die Ovarien entnommen, sorgfältig von anhaftendem Gewebe freipräpariert und das Gewicht bestimmt.[1]

Die weitere Aufarbeitung des Gewebes und die chemische Bestimmung der Ascorbinsäure wurde mit 2,4 Dinitrophenylhydrazin nach der von Roe und Kuether angegebenen Methode durchgeführt; die Werte für die absolute und relative AS. wurden bestimmt und ihre Relationen zu den entsprechenden Ovargewichten geprüft.

Ergebnisse

Die unter gleichen methodischen Voraussetzungen durchgeführte Kontrolle an intakten Tieren ergab ein mittleres Ovargewicht von 40,3 $\pm$ 9,3 mg. Der Mittelwert für die absolute AS. betrug 27,9 $\pm$ 9,88 γ, der mittlere Wert für die rel. AS. 72,18 mg/100 g Ovar.

Die 1. Tiergruppe erhielt nach der Hypophysektomie 4 Tage lang täglich je 50 IE HCG injiziert. Bei dieser Gruppe fand sich ein mittleres Ovargewicht von 47,2 $\pm$ 13,0 mg. Der Mittelwert für die abs. AS. ergab 28,0 $\pm$ 8,93 γ, der mittlere Wert für die rel. AS. betrug 62,03 mg/100 g Ovar.

In der 2. Gruppe, die mit LTH behandelt worden war, ergab sich ein Mittelwert für das Ovargewicht von 50,1 $\pm$ 13,5 mg. Der mittlere Wert für die abs. AS. betrug 29,19 $\pm$ 5,9 γ, für die rel. AS. ergab sich ein Wert von 62,19 mg/100 g Ovar.

In der 3. Gruppe wurden die hypophysektomierten Tiere mit beiden Substanzen behandelt. Sie erhielten 4 Tage lang täglich je 50 IE HCG und 20 IE LTH (die LTH-Dosis mußte auf 20 IE reduziert werden, weil entsprechend ausreichende Substanzen nicht zur Verfügung standen). In dieser kombiniert behandelten Gruppe fand sich ein mittleres Ovargewicht von 58,07 $\pm$ 13,7 mg. Der mittlere Wert für die abs. AS. betrug 31,5 $\pm$ 6,36 γ, und für die rel. AS. 56,99 mg/100 g Ovar. In Ergänzung der Untersuchungen kontrollierten wir die entsprechenden Werte zusätzlich an einer Gruppe gravider Tiere, die jedoch nicht hypophysektomiert waren. Diese Gruppe erfüllt daher nicht alle notwendigen vergleichbaren Versuchsbedingungen, dürfte mit ihren Ergebnissen aber von Interesse sein. Es fand sich hier ein mittleres Ovargewicht von 60,6 $\pm$ 11,47 mg, ein Mittelwert für die abs. AS. von 32,7 $\pm$ 7,82 γ, und ein mittlerer Wert für die rel. AS. von 56,25 mg/100 g Ovar.

[1] Dr. A. Reus danken wir für die Bearbeitung des statistischen Materials

Diskussion

Vergleicht man die AS.-Werte innerhalb der einzelnen Gruppen (s. Tab. I), so kommt man zu dem Resultat, daß eine Beeinflussung der abs. AS. im Rattenovar weder durch HCG oder durch LTH allein noch durch eine kombinierte Anwendung beider Stoffe in einem statistisch zu sichernden Ausmaß zustande kommt. Die Ergebnisse der einzelnen unter verschiedenen Voraussetzungen untersuchten Gruppen sind in der folgenden Tabelle zahlenmäßig dargestellt (Tab. 1).

Tabelle I

Testsubstanz	mittl. Ovargewicht	mittl. abs. AS.	mittl. rel. AS.
Kontrolle	40,30 ± 9,30 mg	27,90 ± 9,88 γ	72,18 mg/100 g
1. Gruppe: 200 IE HCG	47,20 ± 13,00 mg	28,00 ± 8,93 γ	62,03 mg/100 g
2. Gruppe: 200 IE LTH	50,10 ± 13,50 mg	29,19 ± 5,90 γ	62,19 mg/100 g
3. Gruppe: 200 IE HCG + 80 IE LTH	58,07 ± 13,70 mg	31,50 ± 6,36 γ	56,99 mg/100 g
Kontrolle an graviden Tieren	60,70 ± 7,82 mg	32, 70 ± 7,82 γ	56,25 mg/100 g

Dem Anstieg der Werte für die mittleren Ovargewichte geht — wie die Tabelle I zeigt — ein Anstieg der Daten für die abs. AS. parallel. Dabei findet sich jedoch eine deutliche Zunahme der Ovargewichte, während die Werte für die abs. AS. dagegen prozentual wesentlich geringer ansteigen. Nach statistischen Gesichtspunkten liegen die Mittelwerte der abs. AS. mit ihrem Streuungsbereich in allen Fällen im Schwankungsbereich der Nachbargruppen und darüber hinaus, so daß sich keine Signifikanz ableiten läßt. Der hier vorhandene, in der Tabelle fast systematisch erscheinende Anstieg müßte demnach als mehr oder weniger zufallsbedingt angesehen werden. Aus dieser Feststellung wäre demnach abzuleiten, daß unter den hier gegebenen Bedingungen HCG und LTH keinen signifikanten Einfluß auf den ovariellen AS.-Gehalt haben. Mit diesem Resultat stimmen wir überein mit den von Noach und van Rees unter anderen methodischen Voraussetzungen ermittelten Ergebnissen.

Die Werte für die rel. AS. im Ovar zeigen — wie aus Tabelle I ersichtlich — im Vergleich zu den Daten der abs. AS. ein umgekehrtes Verhalten, d. h. abfallende Tendenzen. Bei genauer Betrachtung erkennt man dieses Verhalten als das Ergebnis, das sich aus der relativ großen Gewichtszunahme der Ovarien und dem im Vergleich dazu nur mäßigen Anstieg der absoluten AS.-Werte ergibt. Die unbedeutende, statistisch nicht signifikante Veränderung der abs. AS. bei gleichzeitig starkem Anstieg der Gewichtsdaten muß zwangsläufig für die relativen AS.-Werte einen Abfall ergeben.

Prüft man die in den einzelnen Gruppen ermittelten Ovargewichte, so ergibt eine statistische Auswertung nach dem T-Test einen stark gesicherten Anstieg der mit HCG und LTH kombiniert behandelten Gruppe im Vergleich zur Kontrolle, einen sehr wahrscheinlichen Anstieg (T = 2,8) für die mit LTH behandelten Tiere, während die Differenz der mit HCG behandelten Tiere mit der Kontrollgruppe Werte ergibt, die

im Zufallsbereich (T = 1,88) liegen. Die Differenz der Ovargewichte zwischen graviden und unbehandelten Kontrolltieren ist mit T = 6,5 als sehr stark gesichert anzusehen.

Zur Beantwortung der Ausgangsfrage lassen sich also folgende Ergebnisse ableiten:

Die Zufuhr gonadotroper Wirkstoffe — in diesem Falle HCG und LTH sowie beider Stoffe gemeinsam — scheint den AS.-Gehalt des Ovar bei der Ratte unter den hier verwendeten methodischen Bedingungen nicht zu beeinflussen. Es fand sich ein mäßiger Anstieg der absoluten AS.-Werte in Parallelität zu einem erheblichen Gewichtsanstieg der entsprechenden Ovarien. Statistische Vergleichskontrollen ergaben keine signifikanten Differenzen zwischen den jeweiligen Gruppen untereinander oder zur Gruppe der unbehandelten Kontrolltiere. Für den relativen AS.-Gehalt der Ovarien fanden sich bei ansteigendem Ovargewicht abfallende Werte. Diese Feststellung ist insofern wenig charakteristisch, als sie lediglich als Ergebnis des prozentual stärkeren Gewichtsanstieges der Ovarien im Vergleich zur geringen Zunahme der absoluten AS.-Werte aufgefaßt werden darf. Unter den gegebenen Versuchsbedingungen läßt sich ein deutlicher Gewichtsanstieg der Ovarien erkennen. Diese Tatsache ist zumindest bei den mit HCG und LTH gemeinsam behandelten Tieren statistisch sehr stark gesichert und für die nur mit LTH behandelten Serie sehr wahrscheinlich. Die Deutung dieser Beobachtungen erlaubt zwar mannigfaltige spekulative Betrachtungen u. E. aber keinen sicheren Rückschluß auf eine evtl. zyklische Abhängigkeit des ovariellen AS.-Gehaltes, zumindest nicht in der hier verwendeten Versuchsanordnung. Hinsichtlich einer Beeinflussung der Ovargewichte durch die gonadotropen Wirkstoffe ist zu erkennen, daß die Applikation des luteinisierend wirkenden HCG und des luteotrophen LTH zu einer Gewichtszunahme innerhalb der Ovarien führt. Eine sichere Erklärung für diese substantielle Zunahme ist noch nicht ohne weiteres möglich. Zu denken ist aber in erster Linie an die mit der Luteinisierung zusammenhängenden Vorgänge, die mit deutlichen morphologisch kontrollierbaren Strukturveränderungen einhergehen, deren stoffwechselphysiologische Grundlagen wir aber noch nicht klar beurteilen können. Die Wirkung des HCG und LTH besteht demnach — wenn wir uns auf morphologische Gesichtspunkte beschränken wollen — in einem deutlichen morphokinetischen Effekt auf das behandelte Ovar.

Zusammenfassung

An hypophysektomierten Ratten wurde der Einfluß der gonadotropen Wirkstoffe HCG und LTH sowie die kombinierte Anwendung beider Substanzen auf den Ascorbinsäuregehalt des Rattenovar untersucht. Dabei konnte eine typische Abhängigkeit, die für die Frage einer evtl. zyklischen Veränderlichkeit von Interesse wäre, unter den vorliegenden methodischen Voraussetzungen nicht beobachtet werden. Als Nebenbefund wurde eine regelmäßige Gewichtszunahme der Ovarien unter der genannten gonadotropen Stimulation beobachtet. Dieser morphokinetische Effekt war beim HCG und LTH, wenn diese Substanzen allein verabreicht wurden, gering. Bei einer kombinierten Anwendung von HCG und LTH war in allen Fällen ein charakteristischer Gewichtsanstieg der Ovarien zu verzeichnen.

Schrifttum

Claesson, L. N., B. Hillap, B. Högberg und B. Hökfelt, Acta endocr. **2** (1949) 249. — Coste, F., F. Delbarre und F. Lacronique, Compt. rend. Soc. biol., Paris **147** (1953) 608. — Girond, A., C. P. Leblond und M. Giroux, Compt. rend. Acad. Sc. **198** (1934) 851. — Hagel, M.,

und Hauk, J. Nutrit. **33** (1950) 511. — Hökfelt, B., Acta endocr. **2** (1949) 347; Acta endocr. **20** (1950) 172. — Karg, H., Klin. Wschr. **36** (1937) 12. — Ley, L., Arch. Gynäk. **164** (1937). — Meyer, R. K., W. H. McShan und F. Erway, Endocrinol. **37** (1946) 431. — Molnar, R., und L. Szepasi, Magy. nörv. lap. **13** (1950) 200; Chem. Abstr. **46**, 1117. — Nakajima, J., Zbl. Gynäk. **81** (1959) 337. — Noach, E. L., und G. P. van Rees, Acta endocr. **27** (1958) 502. — Ogawa, J., Irgo Tokyo **5** (1951) 1; Chem. Abstr. **46**, 4621. — Phillips, P. H., H. A. Lady, Boyer und G. M. Werner, J. Dairy Sc. **24** (1951) 153. — Roe, J. H., und C. A. Kuether, Recent Progress in Hormone Research. Acad. Press Inc. Publ. N. Y. 1950. — William, T., Becher und O. H. Gaebler, J. Nutrit. **41** (1950) 447.

Anschr. d. Verf.: Priv-Doz. Dr. K. H. Reiher und H. R. Ziegler, Univ.-Frauenklinik Erlangen

ZENTRALBLATT FÜR GYNÄKOLOGIE
Erscheint wöchentlich, jährlich 52 Hefte. Bezugspreis vierteljährlich DM 17.—
B. G. Teubner, Leipzig C 1, Querstr. 17 (III/18/154) — ZLN 5053

LEBENSLAUF

Ich wurde am 14. 2. 1923 als Sohn des praktischen Arztes Dr. med. Ernst Ziegler und seiner Ehefrau Anni Ziegler, geb. Richrath in Uehlfeld a/Aisch geboren. Dort besuchte ich die Volksschule und verlor im Jahre 1930 den Vater durch einen Unglücksfall. Im Jahre 1942 erhielt ich von der Oberrealschule in Kitzingen a/Main den Reifevermerk wegen Einberufung zum Arbeitsdienst und zur Wehrmacht.

Vom 13. 11. 41 bis 1945 war ich Soldat und von 1945 an in jugoslawischer Gefangenschaft.

Nach 4jähriger Gefangenschaft wurde ich nach Erlangen entlassen und arbeitete zunächst bei der Firma Frieseke & Höpfner als Fräser. Im Wintersemester 1949/50 begann ich mit dem Studium der Medizin an der Universität Erlangen und legte dort am 14. 11. 1955 das medizinische Staatsexamen ab.

Seit dem 28. 11. 1955 war ich zu meiner Ausbildung als Pflichtassistent in der Hals-Nasen-Ohrenklinik Erlangen, in der Frauenklinik Erlangen und in der Medizinischen Poliklinik Erlangen, wo ich zur Zeit noch tätig bin.